

## 145. Methode zur Bestimmung magnetischer Suszeptibilitäten an kleinen Substanzmengen

von R. Haas und F. Grün.

Herrn Prof. Dr. T. Reichstein zum 60. Geburtstag gewidmet.

(29. V. 57.)

Bei der Untersuchung eines Reduktionsproduktes von Vitamin B<sub>12</sub><sup>1)</sup> ergab sich das Problem, magnetische Suszeptibilitäten an Substanzmengen in der Größenordnung von 100 – 500 µg zu bestimmen. Eine vor einigen Jahren von Theorell<sup>2)</sup> beschriebene Anordnung wäre dazu geeignet, stand uns aber nicht zur Verfügung. Wir haben daraufhin ein einfaches Verfahren entwickelt, das sich bei den Messungen an Vitamin B<sub>12</sub> bewährte<sup>3)</sup>.

**1. Das Prinzip der Methode.** Eine Probe der zu untersuchenden Substanz wird in ein inhomogenes Magnetfeld gebracht. Zum Nachweis der auf die Probe ausgeübten Kraft dient eine „Cartesische Schwimmerwage“. Die Messung besteht darin, dass die Kraft durch „magnetische Abgleichung“ zum Verschwinden gebracht wird.

1.1. Die Cartesische Schwimmerwage (Fig. 1). Ein unten offenes und teilweise mit Luft gefülltes Glaskölbchen GK, der „Schwimmer“, taucht vollständig in die im Glasgefäß G befindliche Schwimmerflüssigkeit SF ein. An ihm hängt, an einem Faden befestigt, das Glasröhrchen R mit der Probe der Substanz. G ist gasdicht verschlossen und mit einer Vorrichtung verbunden, die es gestattet, den Druck p im Innern von G sehr fein zu regulieren (in Fig. 1 nicht gezeichnet). Das Ganze ist derart zwischen den Polschuhen eines Elektromagneten angebracht, dass die Achse von R mit der vertikalen Symmetriearchse des Magneten zusammenfällt.

GK und R zusammen (das „System“) bilden einen Cartesischen Taucher. Wir können seinen Auftrieb durch Veränderung von p nach Vorzeichen und Grösse variieren – innerhalb gewisser Grenzen für beliebige Schwimmerflüssigkeiten und beliebige Gewichte von R – und dadurch das System in senkrechter Richtung verschieben und in einer gewünschten Höhe zum Schweben bringen<sup>4)</sup>. In diesem Zustand ist die Vorrichtung geeignet, sehr kleine Kräfte nachzuweisen. Schal-

<sup>1)</sup> O. Schindler, Helv. **34**, 1356 (1951).

<sup>2)</sup> H. Theorell, Arkiv Kemi, Mineral. Geol. **16A**, Nr. 1 (1943); H. Theorell & A. Ehrenberg, Arkiv für Fysik **3**, 299 (1951).

<sup>3)</sup> F. Grün & R. Haas, Nature **177**, 378 (1956).

<sup>4)</sup> „Schweben“ heisst praktisch: Sehr langsames, auch im Mikroskop kaum mehr beobachtbares Steigen oder Sinken des Systems mit einer Geschwindigkeit < 10<sup>-3</sup> cm/sec.

tet man das Magnetfeld ein, so wirkt auf R<sup>5)</sup> eine im allgemeinen von Null verschiedene Kraft, auf die das System mit einer Bewegung reagiert.

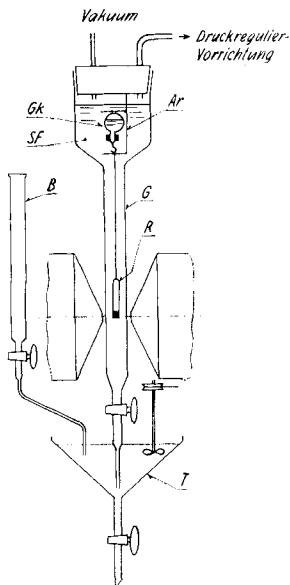


Fig. 1.

Apparatur (schematisch).

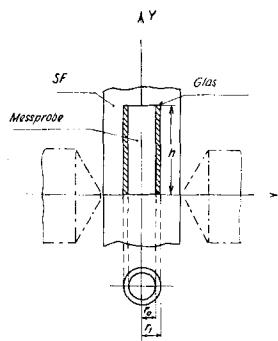


Fig. 2.

Messröhren R im Magnetfeld (Schnitt).

1.2. Die magnetische Abgleichung. Es gilt eine Art Archimedisches Prinzip (Näheres siehe in 2): Die eben erwähnte, auf R samt Inhalt wirkende Kraft entsteht durch das Zusammenwirken zweier Kräfte, einer ersten K, die der mittleren Volumensuszeptibilität  $\bar{\chi}_R$  von R proportional ist, und einer entgegengesetzt gerichteten, zweiten A, einem „magnetischen Auftrieb“, welcher der Volumensuszeptibilität  $\chi_{SF}$  der von R verdrängten Flüssigkeit proportional ist. Die Proportionalitätskonstante k ist für beide Kräfte dieselbe. In Formeln:

$$K = k\bar{\chi}_R \quad (1) \quad \text{und} \quad A = -k\chi_{SF}. \quad (2)$$

$$\text{Wenn } K = -A \quad \text{oder} \quad \bar{\chi}_R = \chi_{SF}, \quad (3)$$

nennen wir R und SF „magnetisch abgeglichen“.

Wir erkennen den Zustand der Abgleichung daran, dass das System auch beim Einschalten des Magnetfeldes in Ruhe bleibt, und

<sup>5)</sup> Strenggenommen wirkt das Feld auf Röhrchen R und Schwimmer GK. Der Schwimmer befindet sich jedoch im Gegensatz zum Röhrchen in einem Gebiet geringer Feldstärke; die entsprechenden Kräfte, vor allem die Veränderungen der Kräfte beim Abgleichen, können vernachlässigt werden. Die räumliche Trennung von R und GK ist entscheidend für unsere Methode; nur dadurch ist es möglich, unabhängig voneinander hydrostatisch auszuschwemben und magnetisch abzugleichen.

wir erreichen diesen Zustand dadurch, dass wir  $\kappa_S$  systematisch variieren. In unserem Falle geschieht dies durch Zufügen eines paramagnetischen Salzes ( $\text{CoSO}_4$ ) zu einer diamagnetischen Flüssigkeit (Wasser). Aus dem so bestimmten  $\bar{\kappa}_R$  errechnen wir schliesslich  $\kappa_S$ , die Suszeptibilität der zu untersuchenden Substanz.

**2. Theoretisches.** 2.1. Die Beziehung zwischen  $\kappa_S$ , der Suszeptibilität des Röhrcheninhaltes, und  $\bar{\kappa}_R$ , der mittleren Suszeptibilität des Röhrchens samt Inhalt. Es gilt (Herleitung siehe unten):

$$\bar{\kappa}_R = \kappa_G \tau + \kappa_S \sigma, \quad (4)$$

wo  $\tau$  und  $\sigma$  für ein gegebenes Röhrchen in bestimmter Lage in einem festen Feld Konstanten sind.  $\kappa_G$  ist die Volumensuszeptibilität des Glases. Daraus folgt:

$$\kappa_S = \bar{\kappa}_R / \sigma - \kappa_G \tau / \sigma \quad (5)$$

und

$$\Delta \kappa_S = \Delta \bar{\kappa}_R / \sigma. \quad (6)$$

Die Suszeptibilitätsänderung des Röhrcheninhaltes ist also proportional der Änderung der mittleren Suszeptibilität des Röhrchens samt Inhalt. Die Proportionalitätskonstante  $1/\sigma$  wird durch Eichen bestimmt. Näherungsweise ist  $\sigma$  gleich dem Verhältnis des Querschnitts des Rohrinnern zum Gesamtquerschnitt des Röhrchens.

Herleitung der Formel 4 (siehe Fig. 2). Wir gehen aus von der Beziehung

$$\vec{K} = \kappa \int_V (\vec{H}, \text{Grad } \vec{H}) dV. \quad (7)$$

Sie gibt uns die Grösse der Kraft  $\vec{K}$  an, die auf einen homogenen Körper vom Volumen  $V$  im Vakuum ausgeübt wird. Bei unserer Anordnung ist aus Symmetriegründen nur  $K_y = K$  von Null verschieden. Führen wir Zylinderkoordinaten ein und bezeichnen wir die  $y$ -Komponente von  $(\vec{H}, \text{Grad } \vec{H})$  mit  $F(r, y)$ , so wird für einen Zylinderring mit der Höhe  $h$  und den Radien  $r_0, r_1$ :

$$K = \kappa \int_0^h dy \int_{r_0}^{r_1} 2\pi r F(r, y) dr = \kappa \Phi(r_0, r_1). \quad (8)$$

Um die totale Kraft  $K_R$  auf unser Röhrchen (einen zusammengesetzten Körper) im Vakuum zu ermitteln, haben wir Formel 8 für den Röhrcheninhalt mit  $r_0 = 0$ ,  $r_1 = a$  und  $\kappa_S$  und für das Glas mit  $r_0 = a$ ,  $r_1 = b$  und  $\kappa_G$  anzuschreiben und die Ausdrücke zu addieren. Es wird:

$$K_R = \kappa_S \Phi(0, a) + \kappa_G \Phi(a, b). \quad (9)$$

Andererseits können wir eine Grösse  $\bar{\kappa}_R$  definieren durch:

$$K_R = \bar{\kappa}_R \Phi(0, b). \quad (10)$$

Aus (9) und (10) folgt dann

$$\bar{\kappa}_R = \kappa_G \frac{\Phi(a, b)}{\Phi(0, b)} + \kappa_S \frac{\Phi(0, a)}{\Phi(0, b)}. \quad (11)$$

Diese Beziehung ist identisch mit (4), wenn wir

$$\frac{\Phi(a, b)}{\Phi(0, b)} = \tau \quad \text{und} \quad \frac{\Phi(0, a)}{\Phi(0, b)} = \sigma \quad \text{setzen.} \quad (12)$$

Abschätzung für  $\Phi$ . Wir schreiben:

$$\Phi(r_0, r_1) = \pi(r_1^2 - r_0^2) \frac{\int_0^h dy \int_{r_0}^{r_1} 2\pi r F(r, y) dr}{\pi(r_1^2 - r_0^2)} ; \quad (13)$$

oder, unter Einführung neuer Bezeichnungen:

$$\Phi(r_0, r_1) = q(r_0, r_1) \bar{F}(r_0, r_1). \quad (14)$$

$\bar{F}(r_0, r_1)$  stellt einen Mittelwert von  $F$  im Zylinderring dar,  $q(r_0, r_1)$  ist der Querschnitt des Zylinderringes. Setzen wir voraus, dass  $\bar{F}$  von der Grösse des Zylinderringes nur wenig abhängt, so wird aus (12):

$$\tau \approx q(a, b)/q(0, b) \text{ und } \sigma \approx q(0, a)/q(0, b). \quad (15)$$

2.2. Die Bedingung für die magnetische Abgleichung. Nach Gleichung 9 gilt für die Kraft, die auf das Röhrchen im Vakuum wirkt:

$$K_R = \chi_S \Phi(0, a) + \chi_G \Phi(a, b). \quad (9)$$

Auf eine den Platz des Röhrchens einnehmende Säule der Schwimmerflüssigkeit wirkt nach (8) die Kraft:

$$K_{SF} = \chi_{SF} \Phi(0, b). \quad (16)$$

Die auf das Röhrchen in der Flüssigkeit wirkende Kraft ist gleich der Differenz beider Ausdrücke. Diese Kraft verschwindet, wenn

$$\chi_{SF} \Phi(0, b) = \chi_S \Phi(0, a) + \chi_G \Phi(a, b), \quad (17)$$

oder wenn

$$\chi_{SF} = \chi_S \frac{\Phi(0, a)}{\Phi(0, b)} + \chi_G \frac{\Phi(a, b)}{\Phi(0, b)} \quad (18)$$

ist.

Wegen (11) ist dies mit (3) identisch.

2.3. Die Beziehung zwischen der Konzentration der SF und ihrer Suszeptibilität. Die Abgleichung durch Titration. Für die Volumensuszeptibilität  $\chi_{SF}$  der Schwimmerflüssigkeit setzen wir an:

$$\chi_{SF} = \chi^c + \chi_{LM}, \quad (19)$$

und entsprechend für die Änderung der Suszeptibilität bei einer Änderung der Konzentration der Lösung:

$$\Delta \chi_{SF} = \chi \Delta c. \quad (20)$$

$\chi$  bedeutet dabei die Grammsuszeptibilität der gelösten Substanz, sie kann der Suszeptibilität dieser Substanz in festem Zustand gleichgesetzt werden,  $\chi_{LM}$  ist die Volumensuszeptibilität des Lösungsmittels und  $c$  die Konzentration der Lösung in g/ml. Die Voraussetzungen für das Gelten von (19) – Gültigkeit der „Quincke'schen Mischungsregel“ und vernachlässigbares Volumen des Gelösten – sind näherungsweise erfüllt.

Wie bereits erwähnt, nehmen wir die magnetische Abgleichung durch Titration mit einer Lösung vor, die in ihrer Konzentration von

der SF verschieden ist, sonst aber mit ihr übereinstimmt. Für die Konzentration der SF nach erfolgter Abgleichung gilt:

$$c_e = (c_0 V_0 + c_a V_a) / (V_0 + V_a); \quad (21)$$

darin bedeuten  $V_0$  und  $c_0$  Volumen und Konzentration der SF zu Beginn des Versuches,  $V_a$  und  $c_a$  sind die entsprechenden Größen für die Abgleichlösung. Aus (21) und (20) folgt für die zur Abgleichung nötige Konzentrationsänderung der SF, bzw. für die entsprechende Suszeptibilitätsänderung der Schwimmerflüssigkeit:

$$\Delta \chi_{SF} = \chi (c_a - c_0) \cdot V_a / (V_0 + V_a). \quad (22)$$

**3. Experimentelles.** – 3.1. Apparatur (Fig. 1). Das Messröhrchen R ist 15 mm lang und hat ein Volumen von 40  $\mu$ l. Das Gefäß G (Volumen ca. 50 ml) ist allseitig schwenk- und verschiebbar in eine Justierzvorrichtung eingespannt; man kann so die Achse von R stets in die vertikale Symmetrieebene des Magneten einstellen, was ein seitliches Wegtreiben des Röhrchens beim Einschalten des Feldes verhindert. Die Arretierzvorrichtung Ar sorgt bei entleertem G für die Fixierung des Systems. Das Ganze befindet sich zwischen den Polschuhen eines Elektromagneten; seine Feldstärke im Zentrum beträgt ca. 10000 Gauss. Die Messungen erfolgen bei Zimmertemperatur.

**3.2. Beispiele einer Messung.** — 3.2.1. Bestimmung von  $\sigma$ . R wird mit Lösung I (Konz. 10 mg/ml) beschickt. (Alle verwendeten Lösungen sind solche von  $\text{CoSO}_4$  in Wasser; die angegebenen Konzentrationen beziehen sich auf wasserfrei angenommenes Salz.) G wird mit ca. 50 ml von Lösung II gefüllt (Konz. 15 mg/ml). Hierauf wird R samt Schwimmer in G gebracht, durch Regulierung des Druckes in einer definierten Lage ausgeschwemt und durch Einschalten des Feldes auf magnetische Abgleichung geprüft. Das System wird arretiert, die Schwimmerflüssigkeit SF nach T abgelassen und aus der Bürette B Abgleichlösung zugefügt. Wir verwenden zwei Lösungen, III: 30 mg/ml; IV: 50 mg/ml. Nach Durchmischen wird die SF wieder in G hochgesogen, das System erneut ausgeschwemt und auf magnetische Abgleichung geprüft. Zur Abgleichung des mit Lösung I gefüllten Röhrchens wurden so schliesslich bei einem bestimmten Versuch 6,00 ml Lösung III und 0,45 ml Lösung IV verbraucht. Dies entspricht einer Konzentrationszunahme der Lösung II um 1,66 mg/ml.

Hierauf wird R mit einer neuen Lösung V beschickt, die aus Lösung I durch Zusatz von 1% Wasser hergestellt ist. Zur magnetischen Abgleichung des mit Lösung V gefüllten Röhrchens wurden z. B. 5,00 ml Lösung III und 0,55 ml Lösung IV verbraucht; dies entspricht einer Konzentrationserhöhung der Lösung II um 1,52 mg/ml. Der Unterschied der beiden zur Abgleichung nötigen Konzentrationserhöhungen beträgt somit 0,14 mg/ml; er entspricht einem Suszeptibilitätsunterschied der abgeglichenen Schwimmerflüssigkeiten von  $9,25 \cdot 10^{-9}$  cgs-Einheiten<sup>6)</sup>, bzw. nach Gleichung 3 einem ebenso grossen  $\Delta \chi_R$ . Andererseits beträgt der Unterschied  $\Delta \chi_S$  der Volumensuszeptibilitäten der Lösungen I und V  $6,60 \cdot 10^{-9}$  cgs-Einheiten<sup>7)</sup>. Nach Gleichung 6 ergibt sich daraus  $1/\sigma$  zu  $6,60/9,25 = 0,71$ . Als Mittelwert mehrerer Bestimmungen wurde für  $1/\sigma$  der Wert 0,70 erhalten.

**3.2.2. Bestimmung des Suszeptibilitätsunterschiedes zwischen reduziertem und nichtreduziertem Vitamin B<sub>12</sub>.** R wird mit einer wässrigen Lösung von Vitamin B<sub>12</sub> beschickt (Konz. 3,65 mg/ml, Volumen 40  $\mu$ l) und, wie oben beschrieben, magnetisch abgeglichen. Hierauf wird der Röhrcheninhalt reduziert<sup>8)</sup> und nach erfolgter

<sup>6)</sup> Wir benutzen für die Grammsuszeptibilität von wasserfreiem  $\text{CoSO}_4$  den Wert  $+ 66 \cdot 10^{-6}$  cgs-Einheiten.

<sup>7)</sup> Berechnet nach Formel 20 aus der durch den Wasserzusatz bewirkten Änderung der Konzentration an  $\text{CoSO}_4$ .

<sup>8)</sup> Näheres siehe I. c.<sup>3)</sup>.

Reduktion das Röhrchen erneut abgeglichen. Die Konzentration der SF muss dazu um  $0,13 \text{ mg/ml}$  erhöht werden, der Wert lässt sich auf ca.  $\pm 0,01 \text{ mg/ml}$  festlegen. Die entsprechende Suszeptibilitätserhöhung beträgt  $8,6 \cdot 10^{-9} \text{ cgs-Einheiten}$ . Multiplikation mit  $1/\sigma = 0,70$  ergibt die Suszeptibilitätserhöhung des Röhrcheninhaltes und daraus errechnet sich schliesslich die durch Reduktion hervorgerufene Suszeptibilitätserhöhung von Vitamin B<sub>12</sub> (**144**  $\mu\text{g}$  Substanz, Molekulargewicht **1440**) zu  $(2300 \pm 200) \cdot 10^{-6} \text{ cgs-Einheiten}$  pro Mol.

**4. Diskussion.** Das Verfahren der magnetischen Abgleichung ist eine Nullmethode und zeigt die typischen Vorteile einer solchen. Das ausgeschwebte System ist dabei ein sehr empfindlicher Indikator für die Abgleichung. Eine Kraft von nur  $10^{-4} \text{ dyn}$  (entsprechend  $0,1 \mu\text{g}$ ) erteilt dem System eine Geschwindigkeit von ca.  $10^{-3} \text{ cm/sec}$ , die entsprechenden Verschiebungen lassen sich im Mikroskop noch beobachten. Andererseits kann man abschätzen, dass für unsere Anordnung eine Kraft von  $10^{-4} \text{ dyn}$  einem Unterschied zwischen der Suszeptibilität des Röhrchens und derjenigen der SF von ca.  $5 \cdot 10^{-10} \text{ cgs-Einheiten}$  entspricht. Dies entspricht ungefähr dem, was wir oben als Empfindlichkeit unseres Verfahrens angegeben haben. Trotz seiner Empfindlichkeit ist der Indikator sehr robust. Einzig seine Handhabung, das Ausschweben vor allem, ist etwas zeitraubend und erfordert eine gewisse Geschicklichkeit. Andererseits ist ein genaues Ausschweben nur nötig, wenn man in der Nähe des magnetischen Äquivalenzpunktes ist.

Die Methode ist flexibel, Art und Konzentration der Schwimmerflüssigkeit können frei gewählt und dem gerade vorliegenden Problem angepasst werden. Dies macht die Methode besonders geeignet zur Ermittlung von Suszeptibilitätsänderungen, die infolge von Reaktionen auftreten. Die benötigten Substanzmengen sind sehr klein, bei paramagnetischen Stoffen genügen weniger als  $100 \mu\text{g}$  für eine Bestimmung.

Wir danken der *CIBA-Stiftung* in Basel für die Unterstützung unserer Arbeit.

#### Zusammenfassung.

Es wird eine einfache Mikromethode zur Bestimmung magnetischer Suszeptibilitäten beschrieben. Die Methode benützt das Prinzip einer „magnetischen Abgleichung“ durch Titration und verwendet einen Cartesischen Taucher als Kraftindikator.

Physikalisch-Chemische Anstalt der Universität Basel.